UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1969 • Thèse n° 582

VITAMINE B 12 ET ABSORPTION

Thèse pour le Doctorat de l'Université
(Mention Pharmacie)
présentée et soutenue le
Mercredi 10 Décembre 1969

par Bernard MARTIN
PHARMACIEN
Interne des Hôpitaux de Bordeaux
C.E.S. d'Hématologie
né le 13 Juin 1943 à BORDEAUX (Gironde)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM P. BLANQUET, Professeur . . . . . Président

J. MASQUELIER, Professeur . . . . . } Juges
P. FERRET-BOUIN, Professeur . . . . . }
L. ARNÉ, Agrégé . . . . . }

Éditions Bergeret, 2, rue Bergeret - BORDEAUX
— Tél : 91-12-59 —

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. G. PORTMANN, R. SIGALAS, F. TAYEAU.
DOYEN : M. H. BRICAUD. — **ASSESSEURS** : MM. J. MASQUELIER, N...

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. CHARRIER, DUBREUIL, CREYX, DARGET, R. SIGALAS, G. PORTMANN, M. RIVIÈRE, R. GIRARD, C. PIFFAULT, R. FABRE, R. DUFOUR, P. FOURMENT, E. AUBERTIN, X. J. DUBECQ, L. MASSÉ, A. LACHAPÈLE, G. VITTE, J. DESPONS, G. DUBOURG.

MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ HONORAIRE : M. BERGER.

PROFESSEURS TITULAIRES

MM.	
P. DELMAS-MARSALET	Clinique des maladies nerveuses et mentales.
P. DERVILLÉE	Médecine légale et Médecine du travail.
R. MANDOUL	Zoologie et parasitologie.
R. CASTAGNOU	Toxicologie et hygiène appliquée.
J. REBOUL	Carcinologie.
P. MESNARD	Chimie organique et Chimie analytique.
R. GRANDPIERRE	Physiologie.
P. BROUSTET	Clinique médicale cardiologique.
N	Clinique chirurgicale.
F. TAYEAU	Biochimie médicale A.
G. MAYER	Histologie et embryologie.
P. BLANQUET	Physique nucléaire appliquée et radiobiologie.
R. SARIC	Clinique médicale.
L. POUYANNE	Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique.
J.-J. DUBARRY	Hydro-climatologie thérapeutique et clinique des maladies de l'appareil digestif.
F.-J. TRAISSAC	Clinique thérapeutique.
R. MAHON	Clinique d'accouchements.
R. PAUTRIZEL	Immunologie et biologie parasitaire.
Mlle G. ROUGIER	Biologie appliquée à l'éducation physique et aux sports.
G. MOUSTARDIER	Bactériologie.
E. BESSIÈRE	Clinique ophtalmologique.
H. LEGER	Anatomie pathologique.
J. MASQUELIER	Matière médicale.
G. MORETTI	Clinique médicale propédeutique et médecine tropicale.
N	Clinique oto-rhino-laryngologique.
P. LAUMONIER	Clinique chirurgicale pleuro-pulmonaire.
J. LENG-LÉVY	Clinique médicale et des maladies infectieuses.
R. LETAC	Pathologie et recherche chirurgicales.
R. QUILICHINI	Pharmacie galénique.
E. NEUZIL	Biochimie médicale B.
R. STOLL	Biologie.
J. LANGE	Clinique urologique.
P. FRÉOUR	Hygiène et Clinique de pneumophtisiologie.
F. RIGAUD	Anatomie.
J. FAURE	Médecine expérimentale et physiopathologie.
N	Clinique chirurgicale des maladies cardiaques.
J. VILLAR	Clinique gynécologique.
P. LE COULANT	Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.
M. BERGOUIGNAN	Pathologie nerveuse et mentale.
J. DUHAMEL	Physique médicale et pharmaceutique.
R. BABIN	Pharmacie chimique.
H. CHOUSSAT	Pathologie médicale.
L. CHASTRUSSE	Clinique obstétricale.
P. VERGER	Clinique médicale des maladies des enfants.
F. LAPORTE	Chirurgie générale.
R. TINGAUD	Clinique chirurgicale.
H. LAUBIE	Botanique et cryptogamie.
Cl. RICHIR	Anatomie pathologique.
R. GOLSE	Chimie générale et Chimie minérale.
J. BAILENGER	Zoologie et biologie animale.
J.-Cl. COLLETER	Chimie analytique.
H. BRICAUD	Médecine générale.
P. BENOIT	Clinique odonto-stomatologique.
Cl. MARTIN-DUPONT	Clinique néphrologique
J. CANELLAS	Pharmacodynamie et hydrologie.
R. CANIVENC	Histologie.
G. DELORME	Electroradiologie.
J. DEPAULIS	Séméiologie chirurgicale.
J. RIVIÈRE	Séméiologie médicale.
H. DULONG DE ROSNAY	Bactériologie.
R. CROCKETT	Chimie organique et chimie analytique.
R. DARMAILLACQ	Chirurgie générale.
H. POUYANNE	Clinique neuro-chirurgicale.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM.	
J. DAVID-CHAUSSÉ	Médecine générale.
J. MARQUEVIELLE	Biochimie médicale.
M. BLANC	Neuro-psychiatrie.
Cl. MASSÉ	Chirurgie générale.
R. MARAUD	Histologie et embryologie.
P. DU PASQUIER	Bactériologie.
J. STAEFFEN	Médecine générale.
J.-P. DUBECQ	Obstétrique.
G. NEVERRE	Physiologie.
J. MEUNIER	Histologie.
A. SERISÉ	Hygiène.
P. FERRET-BOUIN	Physique médicale.
J. VIDEAU	Anatomie.
R. CASTAING	Médecine générale et thérapeutique.
P. BLANCHOT	Médecine générale.
L. DOUTRE	Chirurgie générale.
P. LOISEAU	Neuro-psychiatrie.
Cl. VRIGNAUD	Physique pharmaceutique.
P. SOURREIL	Dermato-vénéréologie.

MAITRES DE CONFERENCES AGRÉGÉS :

MM.	
R. JENSEN	Chimie biologique.
J. BROUSSIN	Electroradiologie.
R. TESSIER	Pneumo-phtisiologie.
Mme J. SÉCHET	Biochimie médicale.
C. LAGARDE	Carcinologie.
C. BÉRAUD	Thérapeutique.
H. LAZARINI	Médecine légale et Médecine du travail.
J. SOUMIREU-MOURAT	Obstétrique.
G. CABANIEU	Médecine générale.
R. LE LOURD	Pneumo-phtisiologie.
L. COURAUD	Chirurgie générale.
J. BENTÉGEAT	Hématologie.
L. ARNÉ	Médecine générale et thérapeutique.
Cl. MARTIN	Pédiatrie.
R. BAUTE	Cryptogamie.
V. DARGELOS	Microbiologie.
Mlle S. LARCEBAU	Toxicologie.
C. WONÉ	Médecine générale et thérapeutique.
J. JULIEN	Médecine générale et thérapeutique.
J.-J. BATTIN	Pédiatrie.
M. DALLOCCHIO	Cardiologie et maladies vasculaires.
J. AUBERTIN	Maladies infectieuses.
P. VÉRIN	Ophtalmologie.
M. GOT	Neuro-chirurgie.
J. TAVERNIER	Electroradiologie : diagnostic et thérapeutique.
J. VINCENT	Physiologie et explorations fonctionnelles.
L. CHEVAIS	Anesthésiologie.
G. GILLARDEAU	Anesthésiologie.
J. HONTON	Orthopédie et traumatologie.
M. BOMBART	Orthopédie et traumatologie.
A. HUGUES	Cancérologie.
M. SABATHIÉ	Anesthésiologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

MM.	
M. PORTMANN	Oto-rhino-laryngologie.
F. BALLANGER	Urologie.
P. BIRBIS	Chirurgie générale.
J.-P. CALAMEL	Chirurgie générale.
L. TEXIER	Dermato-syphiligraphie.
R. GENESTE	Orthopédie.
F. FONTAN	Chirurgie générale.
J. LASSERRE	Orthopédie.

AGRÉGÉS LIBRES

MM.	
G. FAUGÈRE	Obstétrique.
M. L'ÉPÉE	Médecine légale.
H. CABANIÉ	Anatomie.
L. CORCELLE	Ophtalmologie.

CHARGÉS DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES :

MM.	
P. BONJEAN	Anatomie.
M. LAHOURCADE	Parasitologie.
M. SENTENAC	Anatomie.
G. DELMON	Anatomie pathologique.
J. TRIBOULEY	Immunologie, sérologie.
F.-X. MICHELET	Stomatologie.
E. JOUZIER	Chimie biologique (Pharmacie).
L. PINSON	Oto-rhino-laryngologie.
F. COHADON	Neuro-chirurgie.
J.-Cl. ROQUES	Physique médicale.
P. ESCHAPASSE	Physique médicale.
J. PACCALIN	Médecine générale et thérapeutique.

Le Conseiller administratif, Chef des services administratifs :
André ARGILAS.

L'Attaché d'administration universitaire, Directeur du cabinet :
Madame M. C. CHAPENOIRE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation, ni improbation.

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1969 • Thèse n° 582

VITAMINE B 12 ET ABSORPTION

Thèse pour le Doctorat de l'Université

(Mention Pharmacie)

présentée et soutenue le

Mercredi 10 Décembre 1969

par Bernard MARTIN

PHARMACIEN

Interne des Hôpitaux de Bordeaux

C.E.S. d'Hématologie

né le 13 Juin 1943 à BORDEAUX (Gironde)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM P. BLANQUET, Professeur . . . . . Président

J. MASQUELIER, Professeur . . . . . }

P. FERRET-BOUIN, Professeur . . . . . } Juges

L. ARNÉ, Agrégé . . . . . }

Éditions Bergeret, 2, rue Bergeret - BORDEAUX
— Tél: 91-12-59 —

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A MA FEMME

Avec toute ma tendresse et ma gratitude pour le soutien qu'elle m'a depuis longtemps apporté.

A MES ENFANTS

Avec tout mon amour.

A MA MERE

Qu'elle trouve ici toute mon affection et la faible preuve de ma reconnaissance.

A LA MEMOIRE DE MON GRAND-PERE

Qui demeurera à jamais un guide

A MA SOEUR, MA BELLE-SOEUR, MES BEAUX-FRERES

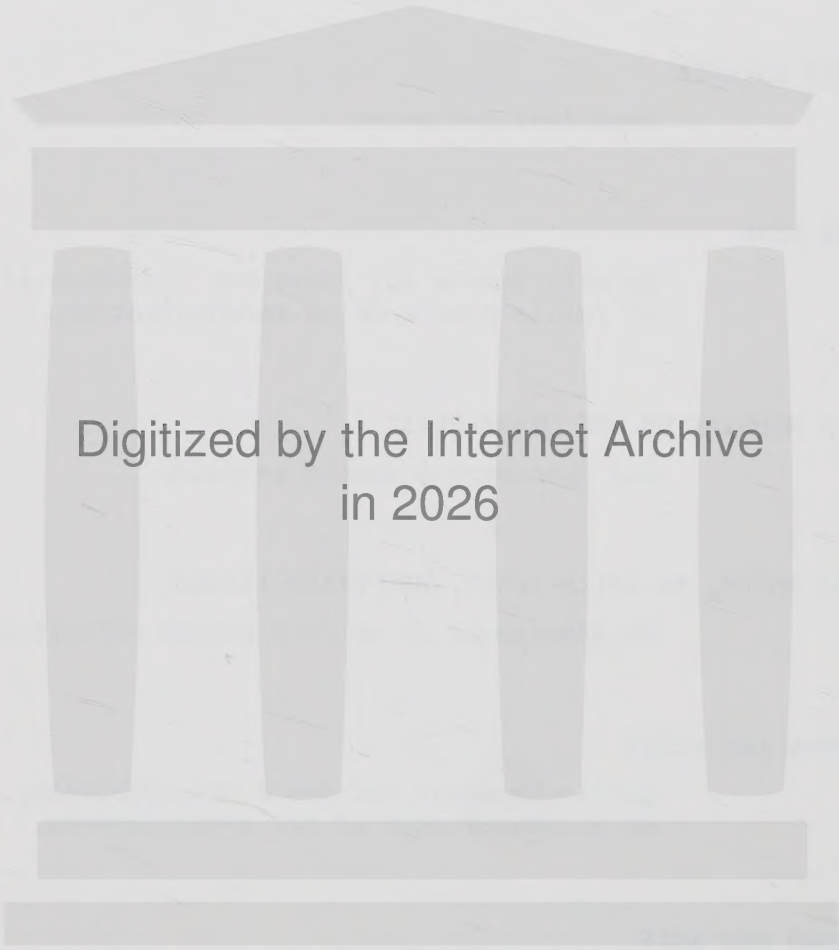
En témoignage de ma très grande affection.

A TOUS LES MIENS

Qu'ils trouvent ici toute mon affection, ma reconnaissance et mes remerciements.

A TOUS MES AMIS

A TOUS MES CAMARADES DE L'INTERNAT


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543911_0012

A NOS MAITRES DE LA FACULTE

Hommage respectueux et reconnaissant.

A NOS MAITRES DE L'INTERNAT

Monsieur le Professeur TAYEAU

Monsieur le Professeur JENSEN

Monsieur le Professeur MORETTI

Monsieur le Professeur BLANQUET

Monsieur le Professeur LAUBIE

A TOUS LES MEMBRES DU LABORATOIRE D'EXPLORATION FONCTIONNELLE PAR LES RADIOISOTOPES et DE L'UNITE DE RECHERCHES INSERM 53

Comme preuve de mon attachement.

Il nous est particulièrement agréable de pouvoir exprimer nos remerciements à toutes les personnes qui ont apporté leur collaboration à ce travaill :

Monsieur le Pharmacien Chimiste Capitaine D. DUCASSOU

Qui nous a apporté non seulement son aide continuelle et si précieuse mais aussi sa sincère amitié. Qu'il en soit ici remercié.

Monsieur le Docteur S. JOTHY

Qui, par son extrême dévouement et sa grande amabilité a pris une part active dans la réalisation de ce travail.

A NOS JUGES

Monsieur le Professeur L. ARNE

Maître de Conférences Agrégé de Médecine générale et Thérapeutique
Médecin des Hôpitaux, Chef de Service

Nous avons été très sensible au bienveillant accueil que vous nous avez réservé. Vous nous faites aujourd'hui l'honneur de juger cette thèse, puisse celle-ci être le témoignage de notre profonde gratitude.

Monsieur le Professeur P. FERRET-BOUIN

Professeur sans Chaire (Physique Médicale)
Biologiste des Hôpitaux
Chevalier des Palmes académiques

Vous nous faites l'honneur de nous compter parmi vos collaborateurs.
Nous avons admiré votre enseignement magistral et votre grande compréhension. Nous tenons à vous exprimer notre reconnaissance et notre respectueux attachement.

Monsieur le Professeur J. MASQUELIER

Assesseur du Doyen
Directeur de l'UER de Sciences Pharmaceutiques
Professeur de Matière Médicale et Microbiologie
Docteur ès Sciences
Officier des Palmes académiques
Chevalier du Mérite Agricole

Permettez-nous de vous dire ici toute notre profonde gratitude pour les enseignements que vous nous avez donnés pendant nos études de Pharmacie. Nous nous souviendrons toujours de l'accueil si bienveillant que vous nous réservez.

En témoignage de nos remerciements pour le grand honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans notre jury.

Hommage de notre profond respect.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur P. BLANQUET

Professeur de Physique nucléaire appliquée
et Radiobiologie
Docteur ès Sciences Physiques
Officier des Palmes académiques
Médaille de Vermeil du Service de Santé
de la Marine
Visiting Professor de l'Université de Californie
Berkeley U.S.A.

Plus de deux ans de collaboration avec vous, ne nous ont pas encore révélé toutes les facettes qui font de vous un véritable "Patron" et un chercheur exceptionnel. Vous nous avez manifesté de nombreuses fois votre confiance et les moyens de la réaliser sans limitation. Nous voudrions continuer à la mériter.

Que cette thèse soit pour vous une preuve de notre indéfectible attachement et de notre profonde reconnaissance.

VITAMINE B 12 ET ABSORPTION

CHAPITRE I
VITAMINE B 12 ET SON ABSORPTION

C'est en 1928, que COHN isola à l'état pur à partir du foie, la vitamine B 12 . On remarqua très rapidement qu'elle était la seule vitamine à être presque exclusivement synthétisée par les microorganismes .Mais chez l'homme, bien que cette synthèse soit réalisée par les microorganismes intestinaux, il est pratiquement incapable de l'utiliser et demeure presque entièrement dépendant de la vitamine B 12 alimentaire .

A la lumière de nombreux travaux sur l'anémie pernicieuse, CASTLE, notamment, put penser, avec juste raison, que le défaut d'absorption de la vitamine B 12, caractérisant cette maladie, provenait essentiellement d'un produit contenu dans le suc gastrique qu'il appela Facteur Intrinsèque et qui permettait l'absorption de cette vitamine .

Il nous a donc semblé important d'étudier rapidement dans un premier paragraphe les deux substances:

- Facteur intrinsèque ,
- Vitamine .

1°- Facteur intrinsèque :

Peut être défini (1) comme une mucoprotéine de poids moléculaire variable suivant le mode d'isolement

entre 15.000 et 70.000 d'après LATNER (2) (3) . C'est un facteur thermolabile et non dialysable . Seuls des enzymes protéolytiques tels que la Pepsine le détruisent . Il faut toutefois remarquer que le complexe résultant de l'association de ce facteur avec la vitamine B 12 est résistant vis-à-vis de cet enzyme .

Le rôle essentiel du Facteur Intrinsèque est de fixer la vitamine B 12 pour lui permettre d'être absorbée au niveau du tube digestif . Son absence dans la maladie de Biermer constitue une des nombreuses preuves .

A côté de ce rôle, le Facteur Intrinsèque possède des propriétés antigéniques (4) (5) qui ont donné lieu à de nombreux travaux . Les Immunologues ont en effet mis à jour de nombreux anticorps plus ou moins spécifiques . Ainsi, SCHWARTZ, KILLANDER ont montré que chez les Biermériens traités depuis longtemps au moyen de Facteur Intrinsèque l'inefficacité qui survient était due à la présence d'anticorps spécifiques développés par les malades . On peut ainsi mettre en évidence :

- des Anticorps spécifiquement tournés contre un Facteur Intrinsèque d'origine précise (muqueuse de porc par exemple) .

- des Anticorps non spécifiques tournés contre les Facteurs Intrinsèques de toutes origines .

Les travaux récents mettent en exergue le rôle des ces Auto-Anticorps dont l'action sur la muqueuse gastrique contenant le Facteur Intrinsèque provoquerait son atrophie . Ainsi le Biermer serait-il une maladie par Auto-Anticorps .

Le Facteur Intrinsèque est secrété, d'après les derniers travaux, par les cellules Pariétales Sécrétoires du Fundus Stomacal . Cette sécrétion serait en excès par rapport à la Vitamine B 12 destinée à être absorbée . C'est donc l'insuffisance ou l'absence de cette sécrétion qui est à l'origine de presque la totalité des déficits en Vitamine B 12 constatés en clinique .

Les travaux d'OKUDA (6) permirent de rejeter tout rôle du Facteur Intrinsèque dans l'absorption de la vitamine B 12 au niveau du gros intestin .

WOLFF travailla sur l'iléon du cobaye qu'il débarrassa entièrement du Facteur Intrinsèque qui y adhère normalement . Il fixa in vitro sur cet organe, de la Vitamine B 12 radio-active (7) en présence de Facteur Intrinsèque . La preuve définitive de l'absorption de la Vitamine B 12 au moyen du Facteur Intrinsèque au niveau de l'Iléon était ainsi faite .

2°- Vitamine B 12 :

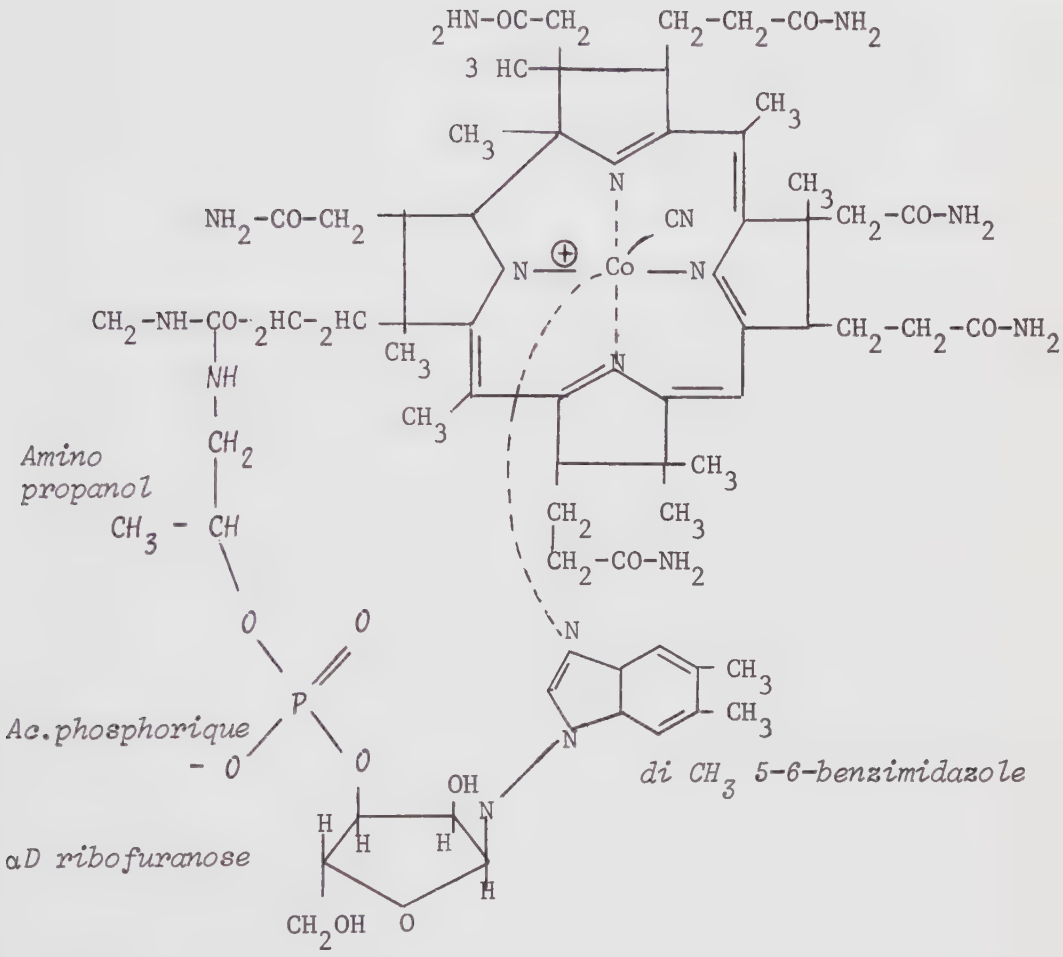
Ce sont surtout dans les dix années qui ont suivi son isolement, que cette vitamine a été sujette aux travaux les plus importants dont ceux de MARY SHORB , des Américains RICKES et coll. qui lui donnèrent en 1948 son nom, et des Anglais LESTER SMITH, TODD et PARKER qui en établirent la structure (3) .

On n'a pas encore pu déterminer quelle est la véritable vitamine naturelle . En effet , les vitamines connues à l'heure actuelle ne sont que des produits d'extraction appartenant au groupe des cobalamines ; la forme la plus utilisée étant la cyanocobalamine . Cette dernière est de préparation et de conservation des plus simples . Cette forme cristallise en aiguilles ou en prismes rougeâtres du fait de la présence du Cobalt .

Du point de vue structure, elle présente un cycle tétrapyrrolique comportant un atome de Cobalt en son centre qui fixe :

- un ribonucléotide avec l'enchaînement Diméthyl , 5, 6 benzimidazole , α D ribofuranose, acide phosphorique, amino 1 propanol .
- un groupement cyanhydrile CN libérable par les acides.

L'ensemble de la molécule dépourvue de CN est une Cobalamine, l'adjonction en faisant une cyanocobalamine.



SCHEMA DE LA CYANOCOBALAMINE

d'après COURTOIS et PERLES

. Les six valences de coordination de l'atome de Co sont saturées par les quatre atomes du tétrapyrrole, un des atomes d'N du Nucléotide et par l'ion CN .

. son poids moléculaire dépend de son degré d' Hydratation . On prend généralement le chiffre de 1355 (8).

. la charge négative de l'atome phosphoré est neutralisée par la charge positive du Cobalt .

. par réduction l'ion cyanhydrile est remplacé par l'ion hydroxyle .

. son spectre présente 3 maxima situés à 278 , 361 , 550 mμ .

. elle est soluble dans l'eau , les phénols, les alcools, mais insoluble dans de nombreux solvants organiques tels que la Pyridine, les amines tertiaires .

Distribution dans l'organisme :

D'après les travaux de LESTER SMITH un individu normal, n'excrète pas plus de 30 pg de vitamine B 12 par jour dans ses urines . C'est en effet le foie qui va la stocker . Cet organe en contient plusieurs mg. GRASBECK (9) parle de 0, 72 μg par gramme de foie frais . Mais OKUDA écrit que probablement une grande partie des réserves se trouve sous forme de coenzyme . LESTER SMITH confirme ce fait en écrivant :

" Il est maintenant connu que la grande partie de la vitamine B 12 hépatique est sous forme de coenzyme lié à sa protéine spécifique l'apoenzyme"!

Rappel des actions biologiques de la Vitamine B 12 : deux principales :

- Activité de croissance cellulaire : la vitamine B 12 est un facteur de croissance cellulaire (les dosages microbiologiques que nous étudierons plus loin, n'en sont qu'une conséquence) .

- Action érythropoïétique : elle intervient en effet dans la synthèse des acides nucléiques, charpente des protéines, nécessaires à la maturation de la lignée rouge médullaire .

Vitamines B 12 radioactives : le marquage diffère suivant l'Isotope utilisé (10).

- Marquage par le ^{14}C : par échange chimique, le ^{14}C peut être facilement introduit au groupement cyanhydrile . Cependant le marqueur est trop facilement perdu pour être d'une quelconque valeur dans les expériences .

- Marquage par le Co radioactif : à la lumière des nombreux travaux, il est certain que l'introduction du ^{57}Co obtenu par irradiation directe à l'aide de neutrons donne les résultats de loin les meilleurs . La difficulté est d'obtenir une activité spécifique importante pour éviter une irradiation trop forte du sujet . On fait appel pour cela à la fermentation en présence de Co radioactif dans un milieu absolument dépourvu de Co stable . Par ce procédé, la vitamine B 12 peut être marquée par tous les Isotopes du Co 56. 57. 58. 60. Le choix des uns ou des autres dépendra de l'examen choisi . Empruntons au Radiochemical Centre d'Amersham, le tableau suivant résumant toutes les caractéristiques des différents isotopes du Co (7) (30) .

.....

Isotope	*1/2 vie*	*Efficacité de comptage avec*		
		Geiger Muller	*Compteur à Scintillation*	*avec Sonde*
Cobalt 60	5,2 ans	bonne	bonne	bonne
Cobalt 56	77 jours	bonne	bonne	bonne
Cobalt 58	72 jours	bonne	bonne	bonne
Cobalt 57	270 jours	faible	très bonne	faible

Certaines précautions doivent être prises pour la bonne conservation de ces isotopes . En effet, pour éviter l'auto-radiolyse qui s'opère en solution aqueuse ordinaire, il est important d'ajouter 0,9 % d'alcool benzylique . Quant à la photo-sensibilité de la vitamine B 12 il est bien entendu aisé de l'annuler par stockage des échantillons à l'abri de toute lumière .

3°- Métabolisme de la Vitamine B 12

La vitamine B 12,qui provient essentiellement des aliments, est dans un premier temps combinée à des protéines servant de transporteurs (11) . Ces complexes arrivant dans l'estomac vont se dissocier sous l'influence du pH acide stomacal libérant ainsi la vitamine B 12 qui va pouvoir aussitôt se lier au facteur intrinsèque présent dans le suc gastrique (23) . Les travaux les plus importants ont été effectués dans ce domaine par COOPER et CASTLE .

LATNER et CITRIN pour leur part découvrirent le lieu exclusif de l'absorption de la vitamine en

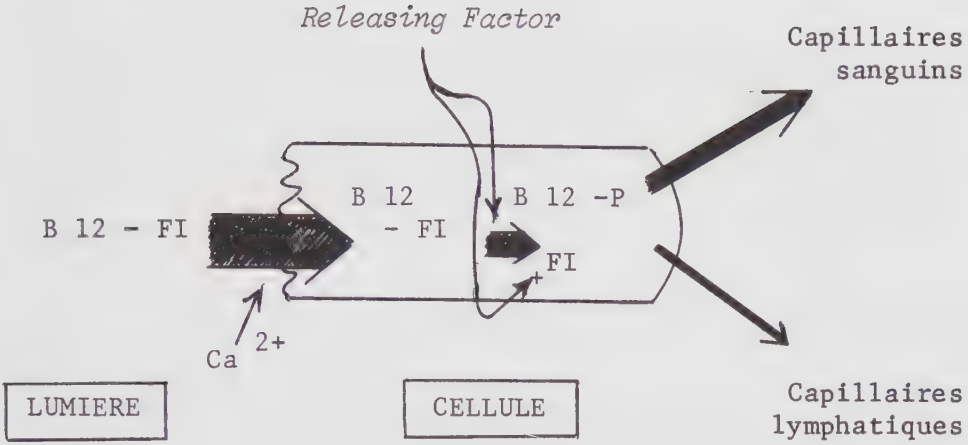
travaillant sur le Hamster . En effet, le lieu de l'absorption de la vitamine B 12 n'est pas le Duodénum comme on l'a cru longtemps, mais l'Iléon (20) .

BOASS (12) montra alors que 95% de la vitamine B 12 absorbée passaient par les capillaires sanguins tandis que 5 % se trouvaient dans les capillaires lymphatiques . Cet auteur explique ce fait de la façon suivante :

Le complexe B 12 - F. I. pénètre dans l'épithélium intestinal (13) où il va être rompu par altération dans la traversée de la cellule pour faire place à un complexe nouveau B 12 - Protéine . Ce dernier va sortir de la cellule épithéliale pour gagner soit les capillaires sanguins soit les lymphatiques . Le poids moléculaire des complexes B 12 -Protéine (15) (19),qui pénètrent dans les capillaires, est encore inconnu mais de l'ordre de 100.000 . COOPER et CASTLE en 1960 mirent d'ailleurs en évidence un facteur non identifié présent dans la muqueuse intestinale de rat qui,in vitro , permet de séparer la vitamine B 12 de son complexe avec le Facteur Intrinsèque .

Des troubles de l'absorption ont été constatés lors de déficience du métabolisme calcique (9) . D'après HERBERT (14) il semblerait que l'ion Ca^{2+} , et d'une façon générale les ions métalliques bivalents (Mg^{2+}) , permettraient la fixation du complexe B 12- F. I. à la surface de la muqueuse intestinale . D'autre part, la dissociation du complexe B 12- F. I. à l'intérieur de la cellule se ferait sous l'influence d'un enzyme que certains ont appelé le "Releasing-Factor", qui n'arrêterait pas là son travail, car il rendrait le Facteur Intrinsèque, ainsi libéré, incapable d'agir de nouveau avec une molécule de vitamine B 12, en le dénaturant véritablement (21) .

On peut résumer ces explications dans un schéma figuratif (3) :



Dans les conditions physiologiques normales, la quantité de vitamine B 12 alimentaire absorbée est fonction de deux facteurs :

- de la quantité de Facteur Intrinsèque présente et ceci comme nous le verrons plus loin, jusqu'à une certaine limite .

- du degré de saturation du plasma en vitamine B 12.

Une fois absorbée, la vitamine B 12 va gagner par le courant sanguin toutes les parties du corps et notamment le foie qui va la concentrer et la stocker . GLASS et ses collaborateurs (16) (22) ont pu mettre en évidence cette distribution et ce stockage au moyen de

vitamine B 12 marquée au ^{60}Co . Le foie va,alors , délivrer la vitamine selon les besoins de l'organisme par passage dans la circulation générale (17) . Dans celle-ci il faut remarquer que la quasi-totalité de la vitamine B 12 est combinée à une globuline de type α comme nous allons l'étudier .

Au niveau des tissus, la vitamine B 12 amenée par le sang, va intervenir dans divers processus (25) :

- Elle participe à la biosynthèse des groupes méthyls ,
- Elle joue un rôle important encore mal précisé, dans le métabolisme des acides nucléiques ,
- Enfin, d'un point de vue qui nous intéressera plus loin, elle favoriserait les phénomènes d'oxydation et de phosphorylation du Tissu Nerveux comme l'a décrit FURTADO .

P. CHOUBRAC rapporte que :

" la vitamine B 12 joue un rôle direct dans la nutrition de l'oligodendrie dont on connaît l'importance dans les phénomènes qui président au renouvellement incessant de la myéline " (Turn-over lipidique).

D'autre part, la vitamine B 12 agit dans la synthèse de l' ARN . Or dans le neurone, le noyau va secréter sans arrêt cet ARN qui est indispensable au maintien de l'intégrité de l'ensemble de la cellule et qui gagne les prolongements cellulaires les plus éloignés .

Cette vitamine B 12 tissulaire est liée (40) aux α globulines par une liaison plus faible que la liaison sérique ce qui permet au sérum de maintenir un taux, en faisant au besoin, emprunt aux réserves tissulaires .

Nous avons étudié le devenir de la vitamine B 12 alimentaire . Mais quels sont les phénomènes constatés lors de la prise orale d'une quantité plus ou moins

importante de cette vitamine (18) en vue d'un traitement ou d'un examen visant à étudier son absorption ? Le Facteur Intrinsèque, ne peut permettre qu'une absorption relativement précise et limitée de vitamine B 12 . Des doses importantes seraient absorbées par une diffusion directe à travers la lumière intestinale, ceci, indépendamment du Facteur Intrinsèque . On constate en effet que la quantité excrétée dans les urines, augmente avec la dose. De ce fait, elle apparaît presque instantanément dans le sang alors que par l'intermédiaire du Facteur Intrinsèque, elle n'apparaît qu'au bout de trois heures environ . C'est ainsi que par prise de 1 γ de vitamine B 12 ^{57}Co, on ne retrouve pas de radioactivité mesurable dans le sérum avant trois heures . Par contre avec une dose de 1000 γ on en retrouve immédiatement .

Envisageons maintenant la prise de vitamine B 12 par injection parentérale (26) . Si on effectue de petites doses, ces dernières sont entièrement conservées par l'organisme . Si on réalise une injection de 50 µg ou plus, une quantité appréciable apparaît dans les urines durant les huit premières heures, et cette élimination augmente avec la dose injectée, mais il faut bien souligner qu'il en sera de même pour les selles (26) . En effet le taux d'absorption sera plus important quantitativement , mais le taux non absorbé augmentera également parallèlement .

C'est ainsi que HEMLE (29) a montré que sur une prise per os, cette fois,de 0,5γ de vitamine B 12 marquée par du ^{60}Co , 60 % seulement étaient absorbés et 40 % éliminés par les selles .

Du point de vue correspondance entre les deux voies possibles d'introduction, ROOS a montré que 3000 γ de vitamine B 12 per os ont la même action que 40 γ par voie parentérale, pour un Biermérien . D'où des traitements par de très fortes doses de vitamines B 12,chez ces malades, sont rendus possibles par l'absence de toxicité de cette vitamine .

Autres facteurs liant la vitamine B 12 :

Le Facteur Intrinsèque n'est en effet nullement la seule substance naturelle qui lie la vitamine B 12 (24) . Il est probable qu'il n'existe pratiquement pas de vitamine ou de coenzyme présent dans l'organisme sous forme libre . Une exception doit être faite bien entendu dans le cas d'une injection parentérale en vue d'un traitement ou d'un examen, par laquelle on apporte directement dans l'organisme une vitamine libre .

D'après PITNEY, le sérum humain normal contiendrait 300 pg de vitamine/ml .

Pour ROOS (27) 500 pg/ml .

Les nombreux travaux de LATNER permirent d'établir que la vitamine B 12 est liée à des protéines spécifiques qui migrent par électrophorèse sur papier avec les α_1 , α_2 ou β globulines (15) (26) (28) . 52 % liés aux α_1, 21 % aux α_2, 7 % aux β , 16 % aux albumines, 4 % aux γ .

HALL découvrit les deux protéines fixatrices distinctes . Il proposa cette hypothèse : la vitamine B 12 endogène est liée à une protéine faisant partie des α_1 globulines ; mais celle administrée per os, injection , ou additionnée au Plasma in vitro, est liée en premier lieu à une autre protéine qu'il est possible d'éluer après passage sur DEAE cellulose . Ce n'est que lentement qu'elle serait ensuite transférée sur une autre protéine . GREGORY et HOLDSWORTH ont réussi à isoler les substances fixatrices sous une forme pure à partir de sérum de poulet et d'estomac de rats et à les caractériser comme étant des glycoprotéines .

CHAPITRE II

ETUDE DES DIFFERENTS TESTS UTILISANT LES ISOTOPES RADIOACTIFS ET PERMETTANT L'ETUDE DE L'ABSORPTION DE LA VITAMINE B 12

L' Isotopiste possède toute une batterie de tests pour explorer l'absorption de la vitamine B 12 . Comme nous l'avons déjà vu, il doit d'abord faire un choix de l' Isotope à employer . Plusieurs critères doivent entrer en ligne de compte .

- Irradiation du sujet qui doit être la plus faible possible .
- L'efficacité du comptage, fonction de l'appareillage dont on dispose, doit être la meilleure .
- La préparation industrielle de la vitamine B 12 marquée et le point de vue économique enfin .

Dressons un tableau récapitulatif des différents isotopes du Cobalt que nous avons à notre disposition (30) .

. . . . . .

Vitamine B 12	*Période*	*Type de l'émission*
^{56}Co	77 jours	β^+ 1,49 Mev γ 0,847 . 0,511
^{57}Co	270 jours	γ 0,122 . 0,511
^{58}Co	72 jours	β^+ 0,474 γ 0,810
^{60}Co	5,2 ans	β^- 1,48 . 0,314 γ 1,173 . 1,332

Le problème qui se pose est d'employer des quantités de vitamine B 12 marquée physiologiques, donc basses, comme dans tout test d'exploration fonctionnelle. De ce fait, il faut employer un isotope de haute activité spécifique . Seul le Cobalt 57 possède cette qualité . Nous verrons cependant quelques cas pour lesquels son emploi est impossible .

Différentes méthodes s'offrent à nous (30, 31, 17, 7, 32) .

1°- Mesure de l'élimination fécale Heinlé, Welch .

Une dose test de 1 µg de vitamine B 12 ^{57}Co représentant 0, 5 µci est donnée au patient par voie orale. Après mesure de l'activité ingérée, on détermine le taux excrété dans les selles pendant cinq jours environ . La différence entre ces deux valeurs correspond à la quantité de vitamine absorbée .

Le sujet normal absorbe plus de 50%, ce qui donne donc une élimination fécale inférieure à 50 % . Dans le cas d'anémies de Biermer, l'absorption est très abaissée le plus souvent inférieure à 10 % . Les malades présentant des gastrites atrophiques ou des déficiences de vitamine dues à une malabsorption intestinale vont avoir des résultats sensiblement identiques bien que légèrement plus élevés .

Cette méthode n'est cependant pas à recommander en routine hospitalière . Faire recueillir toutes les selles à un malade pendant cinq ou six jours est le plus souvent un problème quasi insoluble . Du point de vue pratique, le comptage des selles nécessite un appareillage spécial peu commode, notamment des pots de prélèvements spéciaux pour obtenir une géométrie de comptage acceptable . De plus, il est impossible de mettre en évidence une petite quantité d'urines qui aurait été collectée avec les fèces . Pourtant, alors, le test ne vaut plus rien . Maints exemples pourraient être cités à ce propos .

Une erreur peut être très dangereuse dans ces cas et provoquer la faute du clinicien . Elle est surtout employée d'une part dans le domaine de la recherche et d'autre part comme vérification des résultats d'un autre type de test d'absorption .

2°- Mesure de la fixation Hépatique.

GLASS a montré que si l'on donne par voie orale de la vitamine B 12 marquée au ^{60}Co à des sujets normaux, celle-ci va s'accumuler dans le foie . Un pic maximum de radioactivité va être mis à jour pendant la première semaine pour demeurer plusieurs mois selon cet auteur. Au contraire, les Biermériens vont accumuler très peu de radioactivité dans cet organe . Au moyen d'un cristal sonde relié à un compteur à scintillations nous allons pouvoir déterminer la radioactivité hépatique par rapport à une zone "froide", qui est généralement la zone ombilicale, et à la radioactivité ingérée .

Nous pouvons déjà facilement nous rendre compte d'un défaut de cette épreuve . En effet, les variations anatomiques rendent souvent difficile la réalisation de ces comptages . Nous avons eu , comme de nombreux auteurs, des résultats faussés dans les cas d'insuffisance hépatique . D'autre part, du fait de la radioactivité intestinale importante, il faut dans la plupart des cas faire administrer au patient un laxatif avant les comptages . Pour obtenir des résultats significatifs, il faut poursuivre l'examen pendant une durée très longue, de l'ordre de quinze jours d'après GLASS, ce qui n'est guère possible la plupart du temps . Enfin, elle nécessite l'emploi de Cobalt 60 dont la période et l'énergie sont très importantes . Le seul intérêt de ce test, semble être de ne pas nécessiter le recueil des urines et des fèces .

3°- Mesure de la Radioactivité Globale du Corps .

Cette méthode a été décrite par CALLENDER en 1966 (31) .

Après une exploration globale du corps du patient à l'aide d'un "cristal sonde" peu "collimaté" nous fournissant le "Mouvement propre" , on fait absorber 1 µg de B 12 ^{58}Co per os . On réalise alors un deuxième comptage qui représentera le 100 % . Une semaine plus tard, lorsque toute la radioactivité inabsorbée est excrétée, on mesure de nouveau la radioactivité du patient . On pourra ainsi déterminer le pourcentage retenu .

Cet examen présente deux inconvénients majeurs :

- durée importante ,

- nécessité d'un appareillage spécial et coûteux dont la plupart des laboratoires ne peuvent disposer . Cependant, il possède la qualité de permettre la mesure exclusive de la vitamine B 12 absorbée .

4°- Mesure de l'excrétion urinaire .

Mise au point par SCHILLING en 1953 qui écrit:

" Après l'ingestion d'une faible dose de vitamine B 12 marquée, comme c'est le cas dans tous ces tests, aucune radioactivité n'apparaît dans les urines du sujet normal ; cependant, si l'on administre par voie parentérale, dans les deux heures qui suivent l'ingestion, une forte dose de vitamine B 12, non radioactive, on déclenche l'apparition d'une radioactivité urinaire" .

Au départ , SCHILLING employa le ^{60}Co, mais de meilleurs résultats sont obtenus grâce à la haute activité spécifique du ^{57}Co .

On administre au malade à jeun depuis douze heures, une dose de 1 γ de vitamine B 12 ^{57}Co per os, puis deux heures après, on injecte par voie intra-musculaire 1.000 γ de vitamine B 12 non marquée ("froide") . On constatera dans les cas normaux une élimination urinaire dans les 48 heures, comprise entre 11 et 30 % de la radioactivité ingérée . Les urines sont recueillies en deux échantillons de 12 heures chacun et comptées dans un compteur à scintillation à cristal creux selon la technique de Schilling . Nous avons constaté pour notre part la nécessité de réaliser un comptage des urines entre la 24ème et la 48ème heure après l'ingestion . Nous retrouvons en effet une radioactivité relativement importante .

Le témoin d'ingestion est réalisé à partir d'une gélule de vitamine B 12 ^{57}Co (commercialisée et dosée par méthode microbiologique) appartenant au même lot que la gélule d'ingestion .

Les résultats sont donc alors exprimés en pourcentage excrété de la dose ingérée . Le test de Schilling est donc une mesure indirecte de l'absorption de la vitamine B 12 .

Ce test présente plusieurs avantages : la facilité , la rapidité et la bonne élimination de la radioactivité . Mais devant un taux d'élimination bas, avant de conclure à un cas pathologique, il faut éliminer un nombre important de causes d'erreurs possibles :

- perte de vitamine B 12 radioactive par voie orale ; vomissements par exemple .
- perte par voie rectale ; diarrhée importante .
- enfin, et surtout mauvaise collection des urines .

Ce test nécessite en effet un recueil strict des urines . Un dosage de créatininurie paraît donc indispensable . Il est bien entendu qu'en cas d'atteinte rénale, le test devient inutilisable . Il en est de même, dans le cas de maladie infectieuse qui peut entraîner un taux anormalement bas d'excrétion urinaire de la vitamine B 12 . Tous ces inconvénients, rendent ce test d'un intérêt très discutable surtout en milieu hospitalier . Si toutes ces causes d'erreurs peuvent être écartées, et si le taux de radio - activité demeure inférieur à 10 %, il faut alors refaire le test , une semaine plus tard, en présence de Facteur Intrinsèque per os dans les mêmes conditions que précédemment . Le Facteur Intrinsèque le plus couramment employé est celui de porc sous forme de gélule dosée à 11 mg . Dans le cas de maladies de Biermer, l'addition du Facteur Intrinsèque va permettre d'obtenir des résultats normaux . Enfin comme dans tous ces tests d'absorption, il est très souvent difficile d'interpréter les résultats entre 5 et 10 % .

5°- Mesure de la radioactivité urinaire et fécale réunies :

Pour essayer d'éliminer le plus possible les inconvénients des deux méthodes prises séparément, nous avons essayé de les coupler en opérant de la manière suivante :

Nous faisons ingérer au malade à jeun depuis 24 heures une gélule de vitamine B 12 au ^{57}Co, puis nous recueillons :

- d'une part les urines :
  . entre 0 et 24 H après l'ingestion
  . et 24 et 48 H après .
- d'autre part les selles :
  . de 0 à 48 H
  . de 48 à 72 H après l'ingestion .

Si cette méthode possède l'intérêt de permettre une vérification mutuelle des résultats fournis, elle n'annule absolument pas les inconvénients liés au recueil des urines ou des selles que nous avons déjà vus précédemment . En effet, nous avons trouvé dans de nombreux cas douteux des résultats ne permettant aucune conclusion valable pour le clinicien . C'est alors que nous avons (17) complété ce test en réalisant une prise de sang huit heures après l'ingestion .

Nous avons alors déterminé la radioactivité plasmatique de cet échantillon que nous exprimerons en pourcentage par rapport au témoin d'ingestion . BOOTH et MOLLIN avancent le chiffre de 0, 75 % comme pourcentage normal .

La technique sur laquelle nous allons baser notre étude en fonction des cas cliniques est donc la suivante :

- ingestion d'une gélule de vitamine B 12 marquée au 57Co à la dose de 1 µg d'activité 0, 5 µci,
- deux heures après, injection intra-musculaire de 1000 γ de vitamine B 12 froide pour saturer le foie .
- huit heures après, prélèvement de 8 ml de sang sur anticoagulant .
- recueil des urines en deux échantillons :
  . 0 à 24 H après ingestion
  . 24 à 48 H après ingestion .

- recueil des selles en deux échantillons :
  . 0 à 48 H après ingestion
  . 48 à 72 H après ingestion .

Les résultats sont exprimés en fonction d'un témoin réalisé de la façon suivante :

- une gélule de vitamine B 12 du même lot que celui utilisé pour le malade est dissoute dans un litre d'eau distillée et placée dans un pot spécial identique à celui utilisé pour le recueil des urines et des selles .

Les Résultats normaux en pourcentage sont les suivants :

Elimination du radioélément dans les selles	> 25 %
Elimination du radioélément dans les urines	entre 10 et 50 %
Elimination plasmatique	> 0,75 %

CHAPITRE III

RESULTATS DU TEST D'ABSORPTION EN FONCTION DES DIFFERENTS CAS PATHOLOGIQUES

I - BIERMERIENS

Nous avons divisé ce paragraphe en trois parties :

1° - Malades présentant une anémie de Biermer sans complication neurologique, ni traitement avant la réalisation du test .

Seuls deux malades ont pu être classés sûrement dans cette catégorie :

Madame V... qui présentait au moment du test une numération comportant 1.300.000 globules rouges/mm^3 avec mégaloblastose médullaire importante .
Le test d'absorption est venu confirmer pleinement la clinique et la biologie :

- Sans Facteur Intrinsèque, nous avons trouvé :
  - . 58 % de radioactivité dans les selles
  - . 0,4 % de radioactivité dans les urines
  - . 0,1 % de radioactivité dans le plasma à la 8ème heure.

- Après addition du Facteur Intrinsèque, la correction était réalisée puisque :

  . 39 % étaient retrouvés dans les selles,
  . 10,7 % étaient retrouvés dans les urines ,
  . 0, 8 % étaient retrouvés dans le plasma .

Monsieur L. . . présentait une anémie macrocytaire à 1.180.000 globules rouges et mégaloblastose médullaire . L'absorption de la vitamine B 12 était de la même manière effondrée sans Facteur Intrinsèque puis corrigée avec ce dernier .

- Sans facteur Intrinsèque on retrouvait :

  . 0, 3 % dans les urines
  . 0 % dans le sérum .

- Avec facteur Intrinsèque on retrouvait :

  . 11, 2 % dans les urines
  . 0, 75 % dans le plasma .

2° - Malades présentant une anémie de Biermer sans complication neurologique mais ayant subi un traitement vitaminique plus ou moins important .

Madame L. 72 ans, présentant au moment du test une anémie macrocytaire à 1.300.000 avec leucopénie et hypoplaquettose associées et médullogramme peu significatif .

- Sans addition de Facteur Intrinsèque, les résultats du test sont les suivants :

  . 87 % ont été retrouvés dans les selles
  . 2 % ont été retrouvés dans les urines

Madame D. . . - malade ne présentant plus, après traitement, de mégaloblastose médullaire, ni d'anémie très franche (numération à 3.000.000 globules rouges/mm3).

- Nous avons retrouvé :
  . 9,8 % dans les urines
  . 0,68 % dans le plasma

donc des résultats peu exploitables .

3° - Malades présentant une anémie de Biermer compliquée de sclérose combinée de la moelle .

a) Avec hématologie positive :

Tous les malades que nous avons étudiés ont été traités .

Monsieur L... 56 ans :

- Le myélogramme permettait de mettre en évidence quelques mégaloblastes et une anémie à 3.000.000 G. R./mm^3
- Du point de vue neurologique on relevait notamment un signe de Babinski bilatéral, un nystagmus, une abolition des réflexes cutanés abdominaux .
  . 85 % de la radioactivité étaient retrouvés dans les selles
  . 8,3% de la radioactivité étaient retrouvés dans les urines .

Madame A...

- Sans Facteur Intrinsèque :
  . 89,5 % dans les selles
  . 7,7 % dans les urines
  . 0,4 % dans le plasma
- Avec Facteur Intrinsèque :
  . 70 % dans les selles
  . 9,7 % dans les urines
  . 0,92 % dans le plasma .

Madame D... L

Le médullogramme présentait une mégaloblastose franche .

- Sans Facteur Intrinsèque :
  . 7 % dans les urines
  . 0,39 % dans le plasma
- Avec facteur Intrinsèque :
  . 18,8 % dans les urines
  . 0,71 % dans le plasma .

Madame R... 66 ans .

Le médullogramme est positif . On trouve une anémie à 2.200.000 G.R./mm^3 . Le tubage gastrique montre une achylie histamino-résistante, après injection de 0,5 mg de chlorhydrate d'histamine .

Du point de vue neurologique, on met en évidence un déficit moteur au niveau des membres inférieurs . La malade se plaint de fourmillements .

Le test d'absorption nous donne les résultats suivants :
  . 52,8 % dans les selles
  . 0,4 % dans les urines .

b) Avec Hématologie négative :

Madame A....

Présente essentiellement une atteinte neurologique .
On note un tubage gastrique normal .
Après traitement par la vitamine B 12, il y a une amélioration .

- Le test d'absorption sans facteur Intrinsèque révèle une absorption diminuée :
  . 3,7% de la dose ingérée sont retrouvés dans les urines
  . 0,5% de la dose ingérée sont retrouvés dans le plasma.

- Par addition de Facteur Intrinsèque l'absorption redevient normale :
  . 11,3 % sont retrouvés dans les urines
  . 0,75 % sont retrouvés dans le plasma .

En conclusion de ce paragraphe sur des malades présentant une anémie de Biermer on peut dire que dans tous les cas nous avons retrouvé l'effondrement classiquement décrit (par SCHILLING notamment) de l'absorption de la vitamine B 12 . Nous retrouvons un pourcentage important de radioactivité dans les selles et à l'inverse un pourcentage très bas dans les urines, signant ainsi une hypoabsorption .

Dans tous les cas, par l'adjonction du Facteur Intrinsèque, le test s'est normalisé . Celui-ci apportera donc une confirmation au clinicien .

II - MALADES PRESENTANT UNE PATHOLOGIE DIGESTIVE

Nous allons étudier les différents résultats du test d'absorption de la vitamine B 12 à l'aide d'un tableau général sur dix malades présentant un diagnostic clinique confirmé .

(voir tableau page suivante)

		GASTRITES HYPOSTENIQUES		GASTRECTOMIES DES 2/3 POUR ULCUS					MALABSORPTIONS INTESTINALES		
		Malade n° 1	Malade n° 2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sans FI	URINES	7 %	9 %	8	8		9,5		2,9		4,2
	SELLES			70			83		63		
	PLASMA		0,6 %		0,6	0,5	0,7	0,6		0,5	0,24
Avec FI	URINES					11			1,9		6
	SELLES								29		
	PLASMA					0,85				0,55	0,29

On peut tirer plusieurs conclusions d'après ce tableau . Tout d'abord, l'absorption est abaissée dans tous les cas considérés mais cet abaissement est faible. En effet, tous les résultats urinaires sont à la limite inférieure de la normale . Il est à remarquer de plus, le peu de résultats obtenus par l'étude de la radioactivité fécale . Les pourcentages fécaux, sont dans les trois cas, que nous avons étudiés, hétérogènes . En effet, dans la majorité des cas, il nous a été impossible de faire recueillir les fèces soit du fait du malade lui-même, soit pour d'autres raisons matérielles .

Le recueil des urines s'est avéré également délicat et chez certains malades, seul le pourcentage de radioactivité plasmatique a pu être calculé . Ce dernier d'ailleurs vient confirmer d'une manière plus tranchée les diminutions de l'absorption . Cependant dans le cas n°6 , où le pourcentage de radioactivité urinaire est subnormal, l'étude plasmatique ne s'est pas avérée plus sensible . Enfin il apparaît que dans les malabsorptions, il y a perturbation notable, des résultats du test ; celle-ci n'est pas corrigée par l'addition de Facteur Intrinsèque . Cependant, nous nous garderons bien de faire une conclusion trop hâtive devant le peu de malades dont nous disposons . Si nous n'avons pu trouver que trois cas présentant des malabsorptions intestinales confirmées par le Médecin traitant lui-même, il semble que ce travail, sur des malades présentant une pathologie digestive, devrait être poursuivi dans l'avenir sur un plus grand nombre de cas .

III - MALADES ATTEINTS DE SIGNES POUVANT ETRE RATTACHES A UNE SCLEROSE EN PLAQUES .

Nous avons retenu dix-neuf cas, avec l'aide des médecins cliniciens, présentant au cours de poussées évolutives tout ou partie du tableau symptomatique suivant :

Arguments cliniques :

- Association d'un syndrome pyramidal à un syndrome cérébelleux avec :
  . paraplégie même fruste
  . Babinski et abolition des réflexes cutanés abdominaux
  . Incoordination motrice modérée
  . nystagmus .
- Troubles oculaires : névrite optique notamment.
- Paresthésies, baisse de la sensibilité profonde .
- Troubles divers : sphinctériens, trophiques, ou psychiques .
- Evolution cyclique de ce syndrome clinique .

Du point de vue biologique :

- Examen du liquide céphalo-rachidien montrant :
  . un B. W. négatif
  . réaction au Benjoin colloïdal positive
  . à l'électrophorèse du L. C. R. : augmentation et fragmentation des γ globulines .

D'autre part, nous avons noté la présence ou l'absence d'une Achylie gastrique et d'une anémie, ce qui nous a permis à la lumière des résultats des tests d'absorption de classer sous forme de tableau, ces différents cas .

(voir tableau page suivante)

	Sans Achylie Sans Anémie			Avec Achylie Sans Anémie			Sans Achylie Avec Anémie			Avec Achylie Avec Anémie		
	Selles	Urines	Plasma	S	U	P	S	U	P	S	U	P
Malade 1	45	19										
2	24,7	27	4,1									
3	13	14,6										
4 sans FI	73	8,1										
4 Avec FI	82	12										
5		11	0,88									
6		30	1,8									
7		10,2	0,75									
8					5,2	0,16						
9 sans FI					5							
9 avec FI					7,5							
10 sans FI								6,4	0,5			
10 avec FI								15	0,93			
11 sans FI							60	2				
11 avec FI								13,9	0,79			
12							87	8	0,7			
13								12	0,75			
14							75	13				
15 sans FI										91	3,5	
15 avec FI										38	5,7	
16											9,9	0,6
17 sans FI											8,4	0,2
17 avec FI										54,3	7,5	0,25
18 sans FI											5,5	0,4
18 avec FI											6,5	0,43
19											1,3	0,24

Il est bien évident que nous ne pouvons pas tirer de conclusion définitive à partir de ce tableau à cause du petit nombre de cas retenus . Cependant, nous pouvons faire plusieurs remarques .

- Il semble en effet dans les cas ne présentant ni achylie, ni anémie, que le test d'absorption soit normal et ceci dans les sept cas décrits .

- Les malades avec achylie mais sans anémie présentent une diminution de la radioactivité urinaire sans que l'on puisse en tirer d'autres conclusions .

- Par contre, les malades présentant un tubage gastrique normal mais une anémie plus ou moins importante, montrent un test d'absorption sans Facteur Intrinsèque modérément abaissé, qui est corrigé par l'addition du Facteur Intrinsèque . Ici, nous n'avons qu'un très petit nombre de tests effectués avec l'addition du Facteur Intrinsèque et nous avons d'autre part deux cas qui ne correspondent pas à cette remarque .

- En ce qui concerne la dernière colonne groupant les cas avec achylie et anémie, nous avons une grande homogénéité des résultats . Sans Facteur Intrinsèque, nous retrouvons des pourcentages d'absorption abaissés et qui le demeurent même après adjonction du Facteur Intrinsèque .

A l'examen de ce tableau, nous mettons, de nouveau,en évidence la grande variabilité des résultats obtenus avec les fèces, qui, dans quelques cas semblent plus ou moins aberrants .

Par conséquent, un grand nombre de résultats sont rendus dans les services médicaux demandeurs sans les pourcentages retrouvés dans les selles . Dans tous ces cas, il nous a été impossible d'obtenir un recueil valable .

Nous devons également faire mention spéciale du malade numéro 4 , qui est le seul exemple ne concordant pas avec les résultats de sa catégorie . Madame F.. avait subi, quelque temps avant le test, une Néphrectomie du rein gauche et lors de l'examen, nous n'avions obtenu que 600 ml d'urines/24 H. Par contre, lors du nouvel examen avec addition du Facteur Intrinsèque, nous avons pu disposer de 1050 ml/24 H .

IV - MALADES NE PRESENTANT NI ANEMIE NI SCLEROSE EN PLAQUES

Nous avons regroupé dans ce paragraphe neuf sujets présentant des syndromes très différents de ce qui nous a intéressé dans les trois paragraphes précédents :

Madame R... 51 ans .

Hospitalisée surtout pour névrose . Seule une vitesse de sédimentation à 10 après la première heure et 28 après la deuxième heure est à noter dans le bilan biologique .

- Le test d'absorption de la vitamine B 12 donnait les résultats suivants :
  . 11,6 % dans les urines
  . 0,75 % dans le plasma .

Madame B... 53 ans présente :

une asthénie
un état dépressif .

On remarque un syndrome extrapyramidal .

Le test donne les résultats suivants :
. 12 % dans les urines
. 55 % dans les selles .

Madame U... 49 ans .

La malade présentant une anxiété importante avec état dépressif intense et une légère atteinte oculaire . Cette malade du point de vue biologique présente une vitesse de sédimentation à 10, 23 et un cholestérol élevé à 4, 70 g‰. D'autre part, on note une légère augmentation des γ globulines à l'électrophorèse du liquide céphalo-rachidien
Le test à la vitamine B 12 marquée donne les résultats suivants :
. 22, 8 % dans les urines
. 1, 1 % dans le plasma .

Monsieur R... 53 ans .

Ancien éthylique, ce malade présente une sclérose latérale amyotrophique .
Du point de vue biologique, on ne relève qu'une augmentation discrète des α_2 globulines à l'électrophorèse du liquide céphalo-rachidien .

- Le test d'absorption à la vitamine B 12 donne :
. 12 % dans les urines
. 50 % dans les selles .

Monsieur L... 47 ans .

Opéré d'un angiome veineux péri-dural .

- Le test d'absorption effectué avant l'opération donne les résultats suivants :
. 65 % dans les selles
. 28 % dans les urines
. 2 % dans le plasma .

Monsieur L...

Hospitalisé à la suite d'une paresthésie des extrémités .
Son test d'absorption est entièrement normal :
. avec 12 % dans les urines
. et 87 % dans les selles .

Madame N... 64 ans .

Souffre d'arthrose importante . On note également une légère hypotonie musculaire . Le test d'absorption donne les résultats suivants :

. 43 % dans les selles ,
. 15, 5 % dans les urines .

Madame R... 75 ans .

Est atteinte d'ostéoporose . Au moment du test on suspecte une leucose lymphoïde chronique . On retrouve 62 % de la radioactivité ingérée, dans les selles .

. 24, 7 % dans les urines
. 3, 1 % dans le plasma .

Monsieur G...

Hospitalisé pour cirrhose éthylique . Les résultats du test d'absorption sont les suivants :

. Urines 28 %
. Plasma 2, 8 % .

L'étude de ces quelques cas, nous autorise à dire que le test d'absorption de la vitamine B 12 peut s'insérer dans les diverses investigations paracliniques permettant d'établir le diagnostic positif et différentiel des nombreuses formes de sclérose combinée de la moelle ; il peut constituer, en outre, un argument d'orientation dans l'étude des syndromes neurologiques typiques .

CHAPITRE IV

DOSAGES ET TEST D'ABSORPTION NE FAISANT APPEL QU'AU PLASMA

Nous avons vu les difficultés opératoires importantes quel que soit le type du test d'absorption choisi quand il est basé sur le recueil des urines ou des selles. Nous avons donc porté notre intérêt sur le plasma .

Nous allons en premier lieu,passer en revue les différentes techniques dont on peut disposer .

1°- Dosages microbiologiques :

La preuve directe de la carence en vitamine B 12 peut être apportée par son dosage dans le sérum . Le principe du dosage microbiologique est le suivant : le microorganisme est mis dans un milieu nutritif synthétique complet , mais dépourvu de vitamine B 12 ; il est alors incapable de proliférer, car il ne peut synthétiser la vitamine indispensable à sa croissance ; on ajoute alors au milieu du sérum ou de l'urine à tester ; sous l'influence de la vitamine contenue dans le sérum ou l'urine, le microorganisme va se développer . On enregistre , après incubation pendant 24 à 72 H , photométriquement sa courbe de croissance que l'on compare avec des solutions étalons de vitamine . On peut également utiliser un milieu nutritionnel coulé avec de l'Agar-agar dans une boîte de Pétri ; la solution à tester ou les étalons sont alors placés dans des trous creusés dans la gélose .

Les microorganismes généralement utilisés sont :

- Le Lactobacillus lactis dorner qui est à l'heure actuelle remplacé par le Lactobacillus leichmanii (test L. L.) . Il faut cependant signaler l'extrême complexité du milieu nutritif employé et la réponse qui s'avère positive non seulement avec la vitamine B 12, mais encore avec la Thymidine et les autres désoxyribonucléosides .

- L'Escherichia coli mutant, préparé par DAVIS et MINGOLI . Le milieu nutritif est dans ce cas plus simple mais la sensibilité est moindre .

- L'Euglena gracilis de Hutner (Test E. G. B.) . Le milieu nutritif est pour ce test le plus simple et la sensibilité est la meilleure ; cependant, la croissance du germe est très lente . Quatre à cinq jours sont ainsi nécessaires pour l'analyse . ROBBINS en a de plus discuté la spécificité .

Ces méthodes constituent , davantage des techniques de référence que de routine . Elles sont du fait de leur complexité et des substances qu'elles nécessitent inemployées dans les laboratoires courants .

2 °- Autres méthodes

a) GOTTLEB (35) utilisa la propriété qu'ont des particules de charbon activé d'adsorber seulement la vitamine B 12 libre . Le principe est le suivant : on fait agir une solution de Facteur Intrinsèque, dont on connaît le pouvoir maximum de fixation en vitamine B 12, sur la vitamine du sérum à étudier . Cette dernière se fixe sur le Facteur Intrinsèque . On fait agir ensuite une quantité de vitamine marquée égale au maximum possible de la fixation sur le Facteur Intrinsèque . Les particules de charbon introduites dans le milieu vont adsorber la vitamine B 12 radioactive restée libre . La vitaminémie correspondra à la différence entre la quantité totale de vitamine B 12

radioactive introduite et la quantité de vitamine B 12 radioactive restée libre c'est-à-dire adsorbée sur le charbon .

Cette technique n'est plus guère employée car elle donnait des résultats inconstants du fait, soit du charbon, soit de la vitamine B 12 sérique qui est présente en très faibles quantités sous forme libre .

LESTER SMITH et coll. ont décrit une technique spectrophotométrique après chromatographie sur colonne de D. E. A. E. et C. M. cellulose qui permet d'éliminer les impuretés et les autres cobalamines .

La lecture se fait dans l'ultra-violet à 361 mμ et à 550 mμ dans le visible .

FANTES, réalise en premier lieu, une hydrolyse acide et à chaud . L'hydrolysat est alors estérifié . Les impuretés sont éliminées par lavage avec de l'acide Méthanol chlorhydrique . La lecture se fait de la même façon que précédemment . Mais ces méthodes sont sujettes à caution . De nombreux produits de dégradation interférant .

BOXER et RICHARDS basent leur méthode sur la présence dans la molécule de vitamine B 12, de 5-6 Diméthyl-benziminazole . Après hydrolyse acide, le noyau iminazole est rompu par Benzoylation et la Diméthyl - phénylène diamine est libérée par une nouvelle hydrolyse. L'hydrolysat est alors traité par l'acétone ou l' alloxane pour donner des dérivés dosés par colorimétrie ou fluorimétrie .

Tout dernièrement, Septembre 1969, ("Symposium on in vitro procedures with radioisotopes") , ROOS (36) et M. D. RUBINI (37) décrirent deux nouvelles méthodes dignes d'intérêt .

RUBINI, tout d'abord, a mis au point une technique très originale, mais de réalisation très délicate . En laissant en contact 12 heures, 2, 5 ml d'une solution saline de Facteur Intrinsèque à 11 mg/ml dans un tube en

polystyrène, le Facteur Intrinsèque se fixe par un procédé inconnu sur les parois du tube . Au bout des douze heures, on décante et on lave deux fois en eau physiologique . Les tubes ainsi préparés sont conservés à + 4° jusqu'à l'emploi .

Les solutions étalons de vitamine B 12 sont préparées également en eau physiologique .

Les sérums à tester et les étalons sont acidifiés à pH 5, 4 puis placés dans un bain-marie bouillant pendant 18 mn pour libérer la vitamine B 12 liée à des protéines porteuses . On réajuste ensuite le pH à l'aide d'un tampon Tris Maléate 1 M. On ajoute alors 0, 25mcg/ml, soit 11 à 13 µci/mg de vitamine B 12 marquée au ^{57}Co . On verse alors le mélange dans les tubes en Polystyrène sur lesquels est fixé le Facteur Intrinsèque . On laisse ainsi 24 H à température du laboratoire . Au bout de ce laps de temps, les tubes sont rincés deux fois sous eau courante et comptés dans un compteur à Scintillation. Les résultats nous seront donnés par rapport à la courbe dressée à l'aide de solutions étalons .

D'après cette technique, les résultats normaux seraient de 1340 pg/ml $\pm$ 500 .

Nous voyons donc déjà le peu de sensibilité de cette méthode qui présente pourtant le grand intérêt de la facilité de manipulation .

D'autre part, en essayant cette technique, nous n'avons pas pu obtenir une bonne reproductibilité dans la fixation du Facteur Intrinsèque sur les tubes en polystyrène.

Cependant, il faut mentionner que, si nous avons utilisé des tubes en polystyrène, nous n'avons pu avoir à notre disposition les mêmes tubes que l'auteur .

P. ROOS , a mis au point une technique plus longue, mais beaucoup plus satisfaisante . Il détermine la vitamine B 12 sérique par saturation d'une résine amberlite.

La méthode est basée sur le principe d'une compétition entre une fraction de vitamine B 12 marquée et la vitamine B 12 non marquée endogène du sérum, vis-à-vis d'une quantité connue de substances fixant spécifiquement la vitamine B 12 . Les premiers essais de l'auteur ont naturellement porté sur l'emploi du Facteur Intrinsèque comme substance fixante . Il a remarqué qu'en utilisant un pool de sérum d'individus normaux, il obtenait les mêmes résultats . Or, il est naturellement plus facile de se procurer en vue d'un dosage effectué à de nombreux exemplaires quotidiennement un pool de sérum . Pour séparer la fraction vitamine B 12 libre de la fraction liée, il utilise non pas le charbon actif, mais l'amberlite IR 120 type II qui s'est avérée donner les meilleurs résultats quant à l'absorption du complexe vitamine B 12-Protéine fixante .

On opère sur 0, 5 ml de sérum à tester auquel, on ajoute 3 ml de tampon acétate cyanide pH 5 . Le mélange est porté au bain-marie bouillant 20 minutes, puis refroidi sous eau courante . On centrifuge 10 minutes à 4. 000 tours/mn puis on reprend 1 ml du surnageant, auquel on ajoute 10 nanoCi de vitamine B 12 marquée par du ^{57}Co, 0, 04 ml du pool de sérum et 0, 20 ml d'acide acétique 2 M de façon à obtenir un pH à 4 maximum .

En effet, ROOS a remarqué que le pH 4 permettait une libération optimum de la vitamine B 12 de ses protéines porteuses (Transcobalamines I et II) . Ceci fait, on réalise un premier comptage de la radioactivité sur 4 minutes pendant les 90 minutes de repos nécessaires . On ajoute ensuite, 300 mg d'amberlite . L'agitation qui doit être continuelle durant 15 minutes s'opère dans un bain de glace .

On centrifuge 10 minutes à 3. 500 tours et après élimination du surnageant on compte la résine . Les résultats sont calculés en fonction d'une gamme d'étalons obtenue par les mêmes procédés . Pour obtenir un étalement plus important des valeurs, on peut opérer sur de plus grands volumes, par addition de 15 ml d'eau physiologique après le temps d'incubation de 90 minutes .

Cette technique est d'un emploi commode et relativement aisé et montre une reproductibilité des plus satisfaisante pour un tel dosage . Sur 95 dosages effectués sur des individus sains, ROOS trouve un taux normal de 669 pg/ml ± 180 pg/ml . Rappelons pour mémoire que la méthode microbiologique pourtant de référence, donne un résultat normal avec minimum et maximum beaucoup plus importants : 500 pg/ml ± 250 .

Si à l'heure actuelle on peut donc disposer de bons tests de détermination de la vitaminémie B 12, la question est de savoir ce que peut apporter au clinicien un tel dosage .

La condition de validité primordiale, est qu'il soit pratiqué en dehors de tout traitement préalable par la vitamine B 12, ce qui le plus souvent, va limiter entièrement son indication étant donné, le nombre de malades qui avant tout bilan, reçoivent un traitement vitaminique important .

D'autre part, dans l'interprétation des résultats, les taux effondrés ne peuvent qu'affirmer l'Hypovitaminémie sans apporter d'autres renseignements . Un dosage n'apportera donc pas au clinicien ce qu'il cherche , c'est-à-dire, un examen complémentaire valable qui lui permettra de faire la distinction dans le cas d'une hypovitaminose B 12, entre un trouble d'absorption de cause quelconque et une anémie de Biermer .

Enfin, dernier reproche que l'on peut faire au dosage de vitamine B 12 sérique, c'est qu'il n'est pas le reflet exact de la quantité de vitamine dans l'organisme . Les tissus et notamment le foie, jouent un rôle très important . En effet, une déficience hépatique, peut aboutir à une fuite des réserves vitaminiques hépatiques qui vont gagner le sang . Nous mettrons alors en évidence, une hypervitaminémie , alors qu'en fait l'organisme va être carencé, ou du moins ne posséder qu'un stock limité .

Ces quelques points nous montrent bien l'intérêt très relatif de ces dosages du point de vue clinique par rapport aux tests dynamiques .

Nous avons essayé,donc , de mettre au point un test d'absorption qui ne fairait intervenir ni les selles, ni les urines, mais exclusivement le plasma . Pour ce faire, nous nous sommes inspiré, comme canevas général, de la méthode de radioactivité plasmatique décrite dans la revue du Radiochemical Centre (7) résumant les travaux de différents auteurs (38) (39) .

Son principe est le suivant :

Chez des sujets normaux, après une prise orale de vitamine B 12 ^{57}Co, on retrouve un maximum de radioactivité dans le plasma entre six et douze heures après l'ingestion . En réalisant une prise de sang entre ce laps de temps, on pourra donc déterminer l'absorption en pourcentage ou en concentration .

Technique :

Le patient doit demeurer à jeun douze heures avant et deux heures après l'ingestion . On lui fait absorber une gélule de vitamine B 12 ^{57}Co de l'ordre de 0,5 µci correspondant à 1 µg de vitamine ; puis une prise de sang est faite huit heures après le début du test .

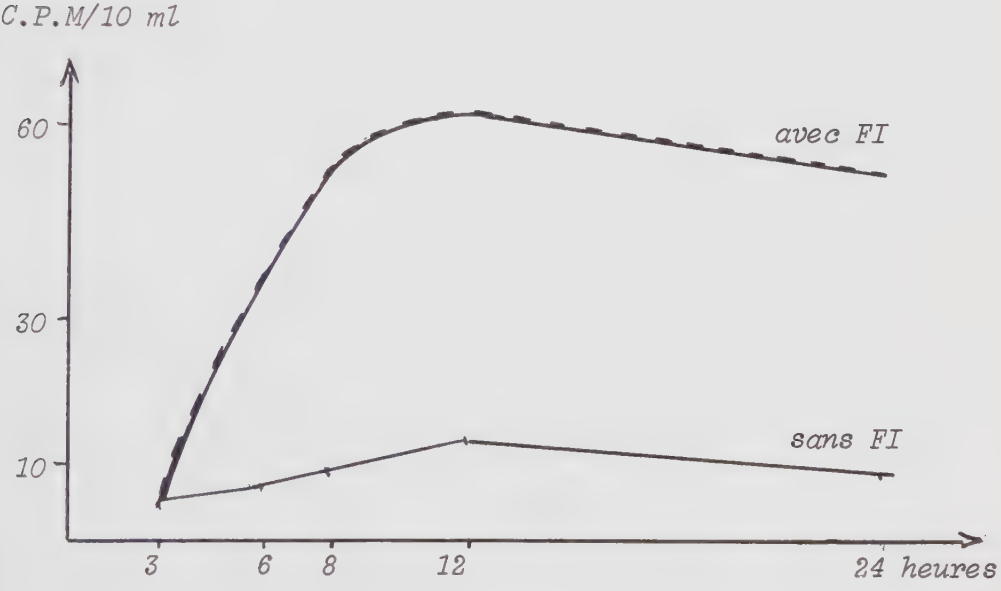
Parallèlement on prépare un témoin réalisé à l'aide d'une gélule provenant du même lot que celle donnée au malade . Ce témoin correspondra donc à la dose ingérée . Les résultats sont exprimés en pourcentage de radioactivité administrée par litre de plasma, ou en concentration de vitamine B 12 par ml de plasma d'après la formule :

$$\text{Concentration plasmatique} = \frac{\text{Coups par minute par ml de plasma}}{\text{Coups par minute par ml de témoin}} \times \text{Concentration du témoin en vitamine B 12}$$

Certains auteurs utilisent cette méthode avec quelques variantes . Ainsi DOSCHERHOLMEN (38) fait une injection intra-musculaire de vitamine B 12 non radioactive deux heures après la prise orale, ce qui lui permet en saturant le foie d'obtenir une concentration sanguine plus importante .

MOLLIN et BOOTH pour leur part, expriment leurs résultats en coups par minute pour 10 ml de plasma et ont réalisé la courbe cinétique de l'absorption de la vitamine en fonction du temps (18) .

Sur un patient présentant une anémie pernicieuse, ils ont obtenu les deux courbes suivantes avec et sans Facteur Intrinsèque :



Ces deux auteurs ne donnent malheureusement pas leur courbe normale, et, en dehors de ce cas, expriment leurs résultats en fonction d'une seule prise de sang réalisée huit heures après l'ingestion de la gélule .

Nous avons pour notre part, repris ce test en effectuant pour chaque malade des prises de sang étalées dans le temps . Ainsi, après l'ingestion de 1 mg de vitamine B 12 ^{57}Co, on fait une injection intra-musculaire de 1.000 γ de vitamine B 12 non radioactive deux heures après; puis 3 heures, 8 heures, 11 heures et 24 heures après l'ingestion on prélève 6 à 8 ml de sang sur anticoagulant . Nous centrifugeons ensuite et prélevons exactement 2 ml de plasma pour chaque prélèvement . La détermination des radioactivités est réalisée dans un compteur à scintillation automatique ce qui nous permet d'effectuer les comptages sur une heure d'échantillon ; nous obtenons ainsi une parfaite reproductibilité des comptages et un nombre de coups suffisant car l'action spécifique des gélules de vitamine B_{12} marquée au ^{57}Co est faible .

En ce qui concerne l'expression des résultats, nous avions à notre disposition deux possibilités :

- en pourcentage d'absorption par litre de plasma
- en pourcentage d'absorption par rapport au volume plasmatique du sujet testé .

La quantité ingérée, nous étant bien entendu fournie par un témoin réalisé comme dans la technique du Radiochemical Centre précédemment décrite .

Pour l'expression en pourcentage, nous appliquons la formule suivante :

$$\frac{\textit{Radioactivité de 2 ml de Plasma} \times V \times 2 \times 100}{\textit{Radioactivité de 2 ml de témoin} \times 2 \times 1.000} = \%$$

Le témoin étant réalisé en dissolvant une gélule dans un litre d'eau, nous avons ainsi l'explication du chiffre 1.000 au dénominateur de la fraction qui peut se simplifier pour donner :

$$\frac{\textit{Radioactivité de 2 ml de Plasma} \times V}{\textit{Radioactivité de 2 ml de Témoin} \times 10} = \%$$

dans laquelle V représente soit le volume plasmatique, soit un litre suivant le mode d'expression des résultats.

Le volume plasmatique est ainsi calculé :

Tout d'abord on détermine le volume sanguin (41) (42) total du sujet en fonction de son poids et de sa taille (Tables de la Nuclear Chicago Corporation) et à partir de là, le volume plasmatique en fonction de l'Hématocrite.

Nous avons tout d'abord établi les courbes cinétiques idéales pour 4 sujets normaux bénévoles, ce qui nous a permis d'établir une zone de normalité et ceci avec les deux modes différents d'expression des résultats.

Examinons les différentes zones obtenues :

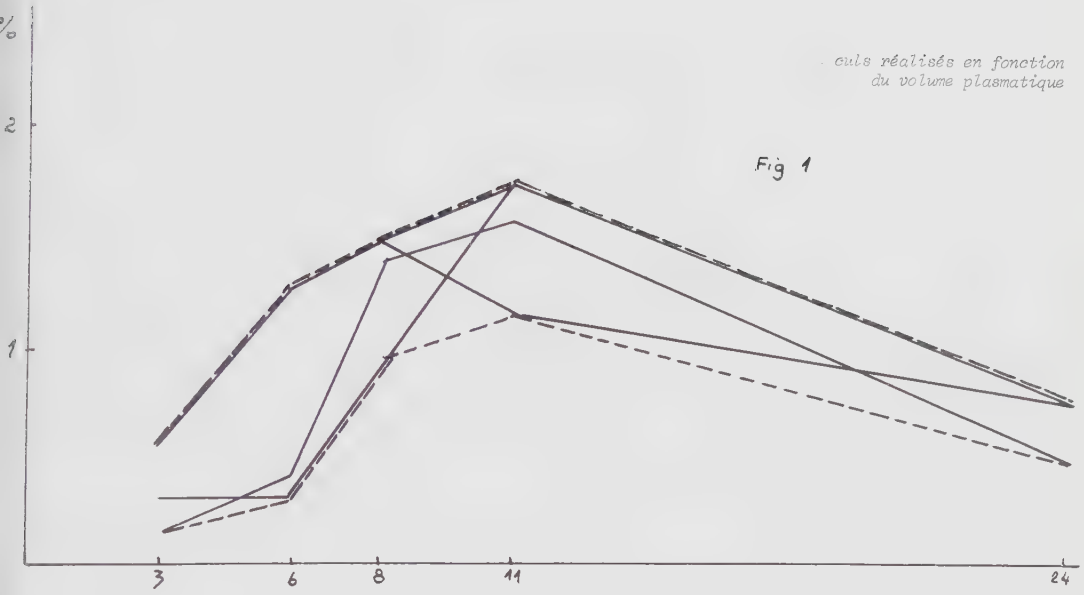
Nous retrouvons en premier une radioactivité dès la troisième heure, mais faible ; puis il y a une augmentation progressive pour obtenir un maximum vers la onzième heure ; ceci dans le cas des résultats exprimés en pourcentage en fonction du volume (figure 1).

Enfin, à partir de la onzième heure, il y a une chute lente jusqu'à la vingt-quatrième heure au moins.

D'une part, nous nous apercevons par cette courbe du peu d'intérêt que représente la mesure d' un seul échantillon de sang surtout prélevé à la huitième heure, comme nous l'avons étudié précédemment .

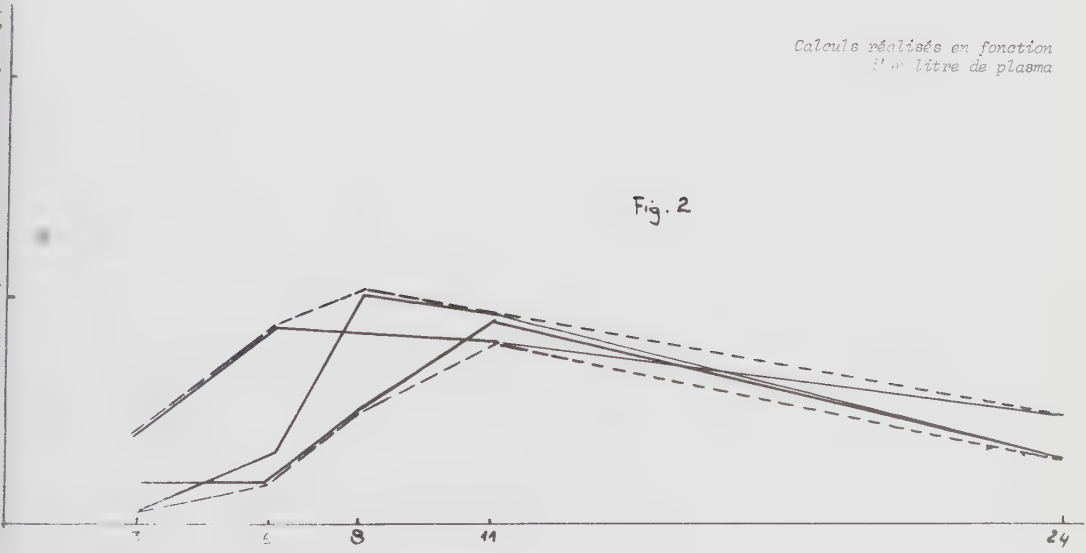
D'autre part, il faut remarquer que nous avons établi une limite supérieure de la zone normale, cela arbitrairement d'après les cas étudiés, et que toutes mesures situées au-delà représenteraient une hyperabsorption ce qui n'aurait pas de signification actuellement .

(voir figures 1 et 2 page suivante)



culs réalisés en fonction
du volume plasmatique

Fig 1



Calculs réalisés en fonction
d'un litre de plasma

Fig. 2

Seules présentent donc un intérêt, les limites inférieures, c'est-à-dire :

- 0,17 % pour la troisième heure
- 0,37 % pour la sixième heure
- 0,95 % pour la huitième heure
- 1,18 % pour la onzième heure
- 0,48 % pour la vingt-quatrième heure .

En ce qui concerne la zone déterminée (figure 2), d'après les pourcentages calculés en fonction d'un litre de plasma, nous obtenons des résultats quelque peu différents . En effet, d'une part, le pic maximum d'absorption se situe à la huitième heure, et d'autre part, la zone comprise entre la onzième et la vingt-quatrième heure est beaucoup plus étroite .

Ces différences proviennent bien entendu du mode d'expression des résultats :

Les volumes plasmatiques des sujets normaux testés qui ne sont nullement identiques, n'entrent pas en ligne de compte . Il semble donc nettement préférable d'exprimer les résultats en tenant compte de chaque individu , c'est-à-dire de son volume plasmatique .

Nous avons voulu appliquer cette méthode à quelques malades dont nous avons reporté les courbes d'absorption trouvées dans les figures 3 et 4 .

La malade n°1 - Madame B... présentait une insuffisance intestinale au niveau de l'intestin grêle pouvant entraîner une malabsorption . Aucune anémie marquée n'était à noter .

Nous constatons à l'examen de la courbe un début d'absorption normale jusqu'à la huitième heure , puis baisse notable signant un léger déficit .

Pour le malade n°2 - Monsieur H. . on a mis en évidence quelques mégaloblastes au médullogramme, mais aucune anémie n'a pu être retrouvée par les différents examens complémentaires . La courbe d'absorption de la vitamine B 12 s'est avérée normale .

Le malade n°3 - Monsieur T. . 79 ans - atteint d'un début de paraplégie présente une anémie à 3. 700. 000 globules rouges, et un tubage gastrique normal . Dans ce cas également, nous avons retrouvé un test normal .

Enfin , Monsieur R. . présente une intoxication par des insecticides de type terpénique, trichloréthylène et parathion . Du point de vue biologique, on peut noter , un tubage gastrique normal, une anémie à 3. 300. 000 globules rouges, un fer sérique à 86 γ % . La courbe d'absorption de la vitamine B 12 est trouvée normale et même élevée .

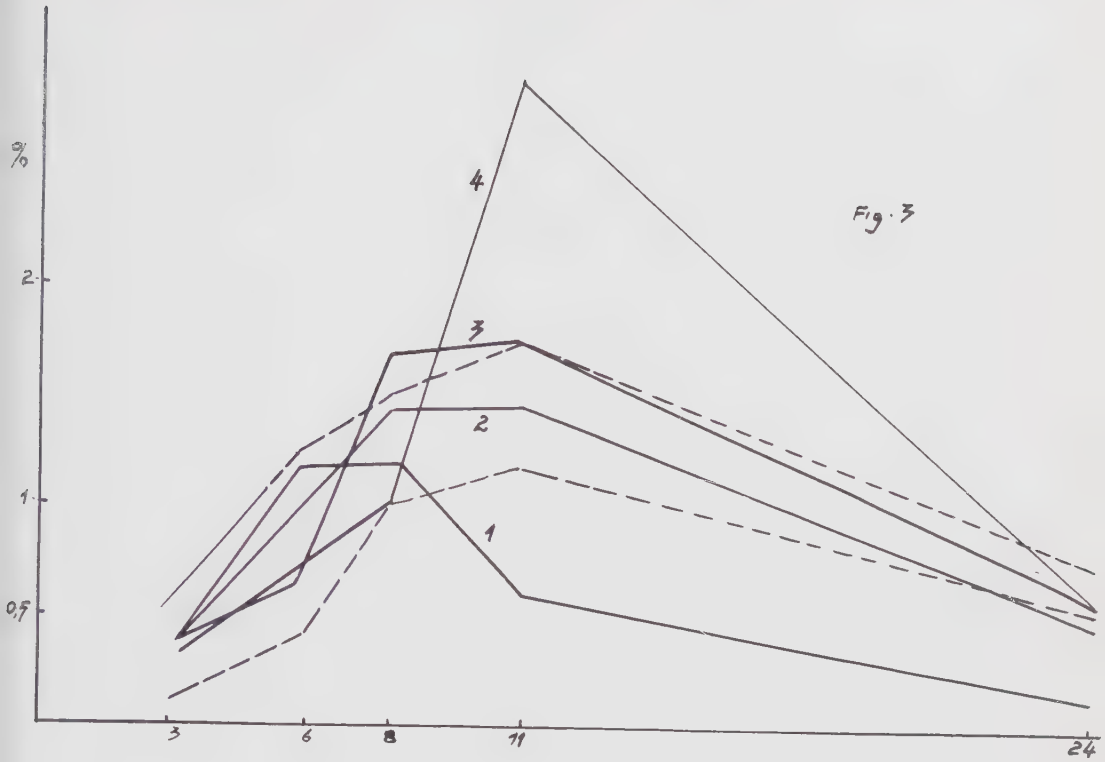


Fig. 3

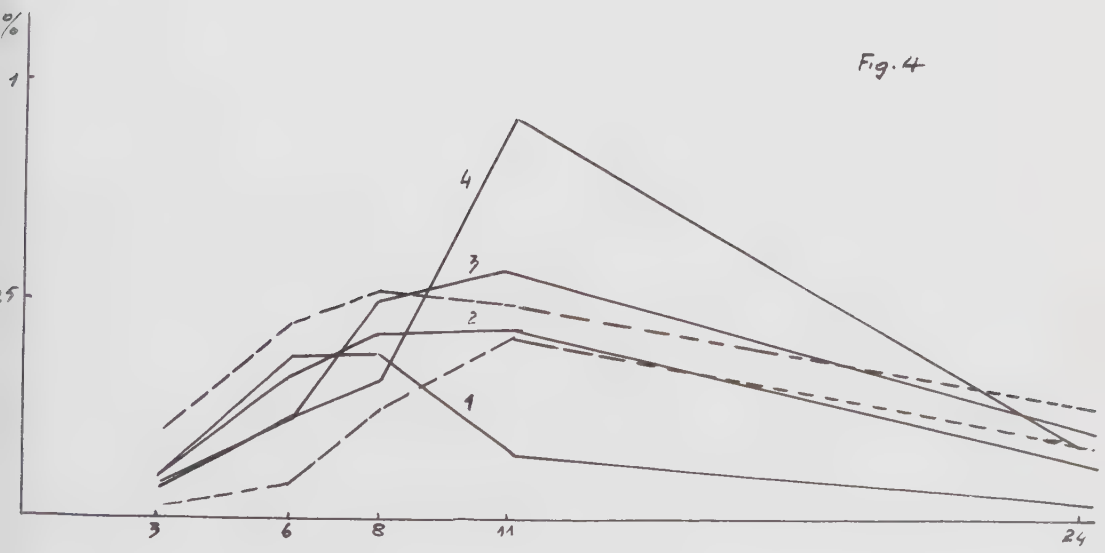


Fig. 4

CONCLUSIONS

Dans ce travail nous avons tout d'abord essayé de faire le point sur l'absorption de la vitamine B 12 . Nous avons ainsi étudié la formation du complexe B 12-F.I et son passage au niveau de l'Iléon . En effet par l'intermédiaire des ions métalliques bivalents, ce complexe pénètre dans la cellule intestinale où il va être rompu par le Releasing-Factor . La vitamine ainsi libérée est prise en charge par une Protéine pour former un nouveau complexe qui passe, alors, soit dans les Capillaires sanguins, soit dans les Capillaires lymphatiques . Une fois absorbée la vitamine B 12 va gagner, par le courant sanguin, notamment le Foie ; ce dernier la délivrant suivant les besoins de l'organisme . Cette étude réalisée, nous avons passé en revue les différents tests utilisant les Radioisotopes permettant l'étude de l'absorption de la vitamine B 12 .

Nous avons étudié d'une manière précise les méthodes basées :

- sur la mesure de l'élimination fécale ,
- sur la mesure de la fixation hépatique ,
- sur la mesure de la radioactivité globale du corps ,
- sur la mesure de l'excrétion urinaire ,
- sur la mesure de la radioactivité urinaire et fécale réunies .

A la lumière des différents cas pathologiques que nous avons étudiés dans le troisième chapitre, on peut

dire que le test d'absorption de la vitamine B 12 marquée est particulièrement indiqué dans trois domaines où il apporte une confirmation ou une orientation (32) :

- Devant une symptomatologie évocatrice de Biermer , qu'il s'agisse d'une anémie mégaloblastique ou d'un syndrome neuro-anémique .

- Devant une affection digestive et plus particulièrement gastrique ou intestinale, même en dehors de toute atteinte hématologique .

- Devant certains syndromes neurologiques, notamment dans la sclérose en plaques . Cependant, dans ce cas, les observations citées ne peuvent nous fournir d'explications précises . Les travaux en cours permettront , peut-être, de résoudre les problèmes concernant ce sujet, qui demeurent encore posés pour le moment .

Actuellement, l'intérêt principal du test d'absorption est de permettre au clinicien d'appliquer à son malade une vitaminothérapie par voie parentérale dans la mesure où l'administration orale ne s'accompagne d'aucune absorption .

Dans le dernier chapitre, nous avons passé en revue et étudié les différentes techniques de dosage de la vitamine B 12 plasmatique et ce qu'elles peuvent apporter au clinicien . Nous avons terminé sur la description et les premiers résultats d'une nouvelle technique d'étude de l'absorption ne faisant appel qu'à la mesure de la radioactivité plasmatique et fournissant une véritable courbe cinétique de l'absorption .

Cette nouvelle technique présente le grand intérêt, d'une part, de ne faire intervenir ni le recueil des urines, ni celui des selles, qui sont une cause trop importante d'erreurs et d'autre part, de ne durer que 24 H.

Le seul inconvénient qui demeure est l'activité spécifique faible du ^{57}Co, ce qui nécessite un comptage long pour obtenir des résultats valables . Aussi, nous allons poursuivre l'étude de cette nouvelle technique en utilisant de la vitamine B 12 marquée avec un ^{57}Co de plus haute activité spécifique (de l'ordre de 5 µci/µg) .

Dans un premier temps, nous appliquerons ce nouveau test d'absorption à un certain nombre de sujets normaux, ce qui nous permettra d'établir la zone normale en calculant les écarts types pour chaque point de la courbe.

Nous serons alors en mesure de répondre d'une manière très précise à la question de l'absorption de la vitamine B 12, ce qui présentera un grand intérêt pour le thérapeute, qui pourra ainsi être fixé au bout de 24 H. seulement .

B I B L I O G R A P H I E

1. GLASS G.B. - Intrinsic factor : Properties and Physiology p. 61.90 in series hoematologica 3. Bjorkman editor 1965.

2. LATNER A.L., ZAKI A.H., BIOCHEM J. - 66.54, 1957, rapporté par Smith.

3. LESTER SMITH E. - Vitami B.12. Methuen's monographs on biochemical subjects. Methuen an Co ltd London 3ème édition 1965.

4. COENEGRACHT J.M., MENDES DE LEON D.E. - Demonstration of possible auto-antibodies against I.F. in pernicious anaemia. Acta Med. Scand. 173, 665, 1963.

5. PERELMAN R. - Conférences d'Internat en Médecine Fascicule 9 librairie Maloine S.A. IIème édition.Paris.

6. OKUDA K. and al. - Intestinal distribution of I.F. and vitamin B 12 absorption. Americ. J. Physiol. 208;14. 7 janvier 1965.

7. THE RADIOCHEMICAL CENTRE - The study of vitamin B 12 absorption using Labelled cobalamins.Médical monograph 6 Amersham England Feb. 1968, Whitefriars Press Ltd London.

8. GLASS G.B. - I.F. Properties and Physiology vitamin B 12 and Folic acid. Séries Hematol 3.1965.61

9. GRASBECK R., KANTERO I. and SIURALA M. - Influence of Ca 2 + ions on vitamin B 12 absorption in Steatorrhea and pernicious anaemia Lancet Vol 1, 234, 31 janvier 1959.

10. SMITH E.L., HOCKENHULL D.J. and QUILTER A.R. - Tracer studies with the vitamin B 12. Biosynthesis of vitamin B 12 Labelled with. ^{60}CO and ^{32}P. Biochemical journal vol 52, 387 - 388, 1952.

11. ABELS J., VEGTER J.J., WOLDRING M.G., JANS J.H. and NIEWEG H.O. - The physiologic Mechanism of vitamin B 12 absorption. Acta Medica Scandinavia vol 165, 105.113, 1959.

12. BOASS A. - Intestinal absorption of intrinsic Factor and vitamin B 12 -IF Complex.Amer J. of Physiol. 64 Tome 207, 27 - 32.

13. OKUDA K. - Intestinal distribution of F.I. and B 12 absorption. Amer J. of physiol., 208, 14.17, 1965.

14. HERBERT V. - Mechanism of Intrinsic factor action in everted sacs of rat small intestine. Journal of clinical investigation, vol 38, 102 - 109, 1959.

15. HARDWICK J. and al - The nature of the vitamin B 12 binding protein in human Serum.Brit. J. Haematol 12., 529, 35, septembre 1966.

16. GLASS G.B., BOYD L.J. and EBIN L. - Radioactive vitamin B 12 in the liver hepatic uptake of ^{60}CO B 12 in Liver disease. Journal of Laboratory and chimical medecine vol 52, 849-859, 1958.

17. BOOTH C.C. and MOLLIN D.L. - Plasma,tissue and urinary radioactivity after oral administration of ^{56}CO labelled vitamin B 12. Britisch Journ of hoematology vol 2, 223 - 236, 1956.

18. BOOTH C.C., MOLLIN D.L. - Plasma tissue and urinary radioactivity after oral administration of ^{56}CO labelled with B 12. Britisch J. Hoematol 1956, 223 - 222.

19. BOASS A. and al - Intestinal absorpttion of intrinsic factor and B 12- IF complex americ J. Physiol 207-27. 32, juillet 64.

20. CAZET J.C. and all. - Absorption of vitamine B 12 from the small intestine. Studies in man, monkey, cat and dog.Britisch J. Surg. 54, 128-31, Feb. 1967.

21. HIGHLEY D. - Studies on the mechanisme of B 12 absorption. Arch. Biochem Biophys. 99. 126.131, 1962.

22. GLASS G.B., BOYD L.J. and STEPHANSON L. - Intestinal absorption of vitamin B 12., in man. Science vol 120, 74. 75., 1954.

23. BAKER S.J. and MOLLIN D.L. - The relationship between intrinsic factor and the intestinal absorption of vitamin B 12. Britisch journal of Hoematology vol 1, 46. 51, 1955.

24. WORKMAN J.B. and al. - Fractionation of vitamin B 12. Binders in Human serum. J. Lab. Clin. Med. 68. 958.65, dec. 1966.

25. COFFEY J.W. and al. - Studies of the interaction of B 12 vitamin. Arch. Biochem, 110, 117 - 123, april 1965.

26. HALL C.A. et FINCKLER A.E. - Biophys acta 78.234, and J. of Lab. and clin. Med. 65, 459, 1965, rapporté par L. SMITH.

27. ROOS P. - A simple and rapid amberlite saturation analysis of serum vitamin B 12. I.A.E.A. symposium Vienna septembre 1969, SM 124/27.

28. MEYER L.M., GIZIS E.J., DIETRICH M., GHOI G. - Characterization and differenciation of ^{57}Co B 12 in vitro binders in humain sérum hematology division Queens Hospital centre.
Jamaïca N.Y. 11432. I.A.G.A. symposium Vienna, sept. 69

29. HEMLE R.N. and WELCH A.D. - Studies of excretion and absorption of ^{60}Co labelled vitamin B 12 in pernicious anoemia. Trans actions of the association of amer physicians., 1952, 65, 214.

30. NAJEAN Y., ARDAILLON N., DRESCH C. - Utilisation des techniques isotopiques en hématologie. Editions J.B. Baillière et Fils Paris 1969.

31. CALLENDER S.T., WITTS L.J., WARNER G.T. and OLIVER R. - The use of a simple whole body counter for hoematological investigations. Brit. J. of Hoemat. vol. 12, 276 - 282, 1966.

32. CURTET M. - Le test de Schilling dans le diagnostic des Myéloses funiculaires et des neuropathies apparentées. Thèse doctorat en médecine 25 novembre 1969, n° 172.

33. CAMBIER MASSON - Manifestations nerveuses des carences en vitamine B 12. Presse médicale 1962, 31 mars 70, 16, 767.

34. WOLFF R., BESANCON F. - La vitamine B 12 dans l'anémie perniceuse. Sem. des hôp. 1955, 31, 36, 2093 - 2103.

35. LAU. K., GOTTLIEB C., WASSERMAN L.R., HERBERT V. - Measurement of serum vitamin B 12. Level using radioisotope Dilution and coated charcoal. Blood, 1965, XXVI, 202 - 214.

36. ROOS P. - A simple and rapid amberlite saturation analysis of sérum vitamin B 12. I.A.E.A. symposium Vienna 8.12, septembre 1969.

37. JOSEPH R., RUBINI M.D. - Simplified assay for vitamin B. 12 in plastic tubes coated with I.F.. I.A.E.A. symposium Vienna 8.12, septembre 1969.

38. DOSCHERHOLMEN A. - Scintillation spectrometry of ^{57}Co vitamin B 12 in the diagnosis of pernicious anemia.

39. WOODLIFF H.J., and AMSTRONG B.K. - Vitamin B. 12 absorption studies : comparison of ^{57}Co and vitamin B 12 plasma levels, urinary excretion and foecal excretion. Medical journal of Australia, vol 1, 1023 - 1025, 1966.

40. DOCUMENTA GEIGY - Vitamine B 12. Tables scientifiques 6ème édition, 477.

41. THE NUCLEUS - Nuclear medicine Handbook Nuclear Chicago corporation, 333 E. Howard ave. Des plaines Illinois 60018.

42. The Tulane table of blood volume (ml) in normal men. The tulane university computer laboratory from the formulas of Nadler S.B., Hidalgo J.U. and Bloch T.

§§§§§§§§§§

Editions BERGERET-2, rue Bergeret-Bordeaux - Tél.91.12.59. -